

Las virosis y enfermedades similares de los cítricos ('Virus and virus-like diseases')

Centro de Protección Vegetal y Biotecnología,
Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA),
Moncada, Valencia.

Email: pmoreno@ivia.es

Las virosis y enfermedades similares de los cítricos, mejor llamadas enfermedades transmisibles por injerto por ser ésta la principal característica que tienen en común, estuvieron representadas en el XII Congreso Internacional de Citricultura por un total de 46 comunicaciones, 11 de las cuales se presentaron en la sesión oral y el resto en la sesión de paneles. En esta ocasión, las comunicaciones sobre la enfermedad del *Huanglongbing* (HLB, anteriormente conocida como greening), que está asociada con una bacteria del floema y es transmisible por injerto y por psíidos, fueron muy numerosas dada su actualidad e importancia económica en Florida y Brasil, por lo que se trataron en una sesión monográfica aparte y en un taller especial dedicados al tema. Los temas tratados en esta sesión fueron muy variados, si bien algo más del 50% de las comunicaciones estuvieron dedicadas al virus de la tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza virus*, CTV), lo que es indicativo de la importancia que siguen teniendo las enfermedades causadas por este virus en numerosos países, seguidas de lejos por las referidas a otros virus como psoriasis, *tatter leaf*, manchado foliar (*Citrus leaf blotch virus*, CLBV) o los viroides.

Los grandes temas en los que se está moviendo la investigación sobre virosis y enfermedades similares de los cítricos y

en los que se han producido avances de distinto calado podríamos resumirlos en los siguientes apartados:

1) **Utilización de las técnicas de secuenciación masiva** (o secuenciación de la siguiente generación) para conocer el genoma de los virus asociados con diversas enfermedades de los cítricos que hasta ahora no habían podido ser purificados y caracterizados por las técnicas usuales de la Virología tradicional. En la última década se ha demostrado que las plantas disponen de un sistema de defensa natural frente a los virus que es capaz de degradar el RNA genómico del virus en pequeños trozos de RNA (*small RNAs*, sRNA) de 21-24 nucleótidos, limitando así la acumulación y efectos del mismo en la planta. Este mecanismo se conoce como reacción de silenciamiento del RNA viral. Las técnicas de secuenciación masiva permiten obtener la secuencia de nucleótidos de millones de estos sRNAs en un tiempo relativamente corto y a partir de estas secuencias parciales, con programas informáticos apropiados, se puede reconstruir la secuencia completa del genoma del virus correspondiente. Como se comentará más adelante, en el congreso se ha presentado la aplicación de estas técnicas a varios virus y viroides de los cítricos.

2) A su vez los virus, para sobrevivir, han desarrollado **sistemas de contra-defensa** para limitar los efectos de la reacción de silenciamiento de las plantas sobre la población viral. Estos sistemas consisten en la expresión de proteínas capaces de suprimir o reducir la reacción de defensa que desencadena la planta contra el virus. Estas proteínas conocidas como **supresores del silenciamiento** son de extraordinario interés por dos razones: a) Si se consigue evitar que el virus las exprese en la planta se favorecería a

ésta en su lucha contra el virus; y b) Estas proteínas están implicadas en algunos casos en la manifestación de síntomas.

Estos avances en el conocimiento de la interacción virus-planta han dado lugar a que se intensifiquen los estudios sobre I) la diversidad de los genes supresores de silenciamiento, II) la posibilidad de introducir en las plantas resistencia a la infección viral evitando la expresión de estos supresores, o III) la mejor comprensión de las interacciones virus-huésped implicadas en la producción de los distintos tipos de síntomas, como base para un control futuro de los daños causados por la enfermedad. Ejemplos de estos estudios con virus de cítricos se comentarán más adelante

3) **La mejora en las técnicas de diagnóstico y caracterización** de distintas cepas de virus. Entre éstas cabe destacar distintas modalidades de RT-PCR en tiempo real que, por una parte, permiten una detección entre 10 y 1000 veces más sensible que otras técnicas, incluyendo la RT-PCR convencional, y por otra, permiten cuantificar de forma fiable la carga viral en distintas especies y variedades, o en distintos tejidos, lo que las hace una herramienta muy valiosa no sólo en la detección de virus sino en análisis de resistencia de huéspedes. Otras técnicas de caracterización de distintas cepas virales incluyen la utilización de diversos marcadores moleculares (principalmente basados en RT-PCR con cebadores específicos de cepas), detección de mutaciones mediante análisis del polimorfismo de conformación de DNA complementario (*single-strand conformation polymorphism*, SSCP) a diversas regiones del RNA genómico, o comparación directa de la secuencia de distintos genes del virus. Estos tipos de análisis fueron el objetivo de numerosas comunicaciones en el congreso.

4) Análisis de la composición de las poblaciones virales, evolución espacial y temporal

de las mismas, modificaciones en la población inducidas por el cambio de huésped o la transmisión por vectores, e interacción entre distintas cepas del virus cuando co-infectan la misma planta. Se sabe desde hace años que los virus con genoma de RNA mutan con frecuencia durante su replicación en las células vegetales dando lugar a una población de variantes de secuencia, cuya composición puede variar por la acción de distintos factores. La composición de la población viral que infecta una planta determina con frecuencia la expresión de síntomas y por tanto los daños que ocasiona una epidemia. Esta composición determina también la sensibilidad de los métodos de detección, ya que ésta depende, por un lado, de la carga viral que acumula la planta infectada, y por otro, de la especificidad de los anticuerpos, sondas o cebadores utilizados en la detección. Asimismo, en virus como CTV en los que a veces se pueden controlar los daños pre-inoculando las plantas con cepas de escasa virulencia (protección cruzada), la interacción entre éstas y las cepas virulentas frente a las que se intenta la protección es fundamental para determinar el éxito o fracaso de ésta. De ahí el creciente interés en el análisis de las poblaciones virales y sus interacciones en estudios epidemiológicos o en la búsqueda de resistencias, que se ha reflejado en distintas comunicaciones del congreso.

Los avances en el conocimiento específico de las distintas virosis y enfermedades similares se detallan a continuación.

Virus de la Tristeza de los cítricos

CTV es un virus filamentosos con un genoma de RNA de hebra sencilla que es el de mayor tamaño y complejidad entre los virus conocidos de plantas y que expresa tres supresores diferentes del silenciamiento (proteínas p25, p20 y p23). CTV se mueve entre zonas distantes al propagar yemas infectadas, y a nivel local se dispersa por la acción de varias especies de pulgones, de las que el vector más eficiente es *Toxoptera citricida*, seguida de *Aphis gossypii*, y a más distancia de *A. spiraecola* y *Toxoptera aurantii*. Mientras en el hemisferio sur y la

mayor parte de Asia *T. citricida* es el vector predominante, en la región mediterránea éste se ha detectado sólo en el norte de España y Portugal, lejos aún de las zonas más importantes de cultivo comercial, y está ausente en otros países, siendo *A. gossypii* el vector más eficiente en esta zona. La tristeza está en expansión en distintos países del Mediterráneo (Italia, Grecia, Marruecos, etc.) y es prácticamente endémica en zonas de España e Israel, en las que ha sido preciso sustituir el patrón naranjo amargo por otros patrones tolerantes para evitar el decaimiento y muerte de las plantas (Foto 1). En estas zonas, el peligro actual es la dispersión de cepas más virulentas de CTV capaces de producir enanismo, acanaladuras en la madera, baja producción y fruta de poca calidad en algunas variedades (Fotos 2 y 3) con independencia del patrón utilizado, por lo que es preciso desarrollar métodos rápidos de identificación de cepas virulentas para evitar su propagación, y en su caso métodos eficientes de protección cruzada. Considerando esta problemática no es de extrañar que 15 de las 24 comunicaciones sobre CTV que se presentaron procediesen de países de la cuenca del Mediterráneo.

La sesión sobre virosis y enfermedades similares se inició con una presentación oral invitada a cargo de la doctora S. Folimonova de la Universidad de Florida, en la que pasó revista a los avances más importantes en el conocimiento sobre CTV logrados en los últimos años. Entre éstos se destacaron cuatro:

1. Tres de las proteínas que expresa el genoma de CTV (p33, p18 y p13) no son necesarias para infectar las especies de cítricos más susceptibles como la lima Mexicana o *C. macrophylla*, pero son imprescindibles para invadir otras menos susceptibles como el naranjo amargo o el pomelo. Esto indica que este virus, restringido a los cítricos, tuvo que adquirir en su evolución esos genes para poder ampliar su gama de huéspedes.

2. La intensidad de los síntomas de acanaladuras en la madera parece ligada al balance en la expresión de las proteínas p33 y p18 o p13 más que a una variante de secuencia específica, lo que puede dificultar el desarrollo de métodos para la identificación rápida de cepas

potencialmente dañinas en plantas sobre patrón tolerante.

3. En relación con la protección cruzada, la autora ha demostrado que los aislados de una cepa de CTV son capaces de excluir completamente la sobre-infección de la planta por aislados de la misma cepa, mientras que esta exclusión no tiene lugar entre aislados de cepas diferentes. Más aún, esta exclusión necesita de la expresión de la proteína p33 homóloga, ya que se ha visto que mutantes del virus en los que se suprimió el gen p33 o se cambió por el de una cepa diferente dejan de proteger frente a la cepa homóloga.

4. Por primera vez se han obtenido en el IVIA plantas transgénicas que son completamente resistentes a la infección por CTV. Estas plantas contienen un transgén que incluye secuencias no traducibles de los tres supresores del silenciamiento de CTV (genes *p20*, *p23* y *p25*), por lo que no expresan ninguna proteína ajena a los cítricos, pero el transgén es capaz de silenciar completamente el virus e impedir la infección.

En otra comunicación oral especialmente novedosa, fruto de la colaboración entre el Instituto de Biología Molecular y Celular de plantas de Valencia y el IVIA, se analizó la localización de la proteína p23 de CTV en el interior de las células infectadas, así como un análisis detallado de los motivos de esta proteína que determinan dicha localización, su actividad supresora del silenciamiento y sus efectos en la patogenicidad. Aunque CTV se multiplica en el citoplasma de las células, se vio que p23 se localiza en el nucleolo celular y en los plasmodesmos, localización esta última que indica un probable papel de p23 en el movimiento del virus célula a célula.

En cuatro comunicaciones se presentaron los resultados de sendas prospecciones de CTV en Marruecos, Argelia, Nigeria y Sicilia. Las tres primeras pusieron de manifiesto que la incidencia de CTV en estos países es más alta de lo que se suponía: del orden del 25% de las muestras analizadas en Marruecos y Argelia, y entre el 48 y el 85% en Nigeria, dependiendo de las regiones. En Sicilia se constató la ausencia de *T. citricida* y de CTV en los árboles madre de los viveros.

Sigue en pag. 54 y 56 ►



Foto 1: Decaimiento inducido por el virus de la tristeza en un naranjo Valencia injertado sobre patrón naranjo amargo.



Foto 3: Frutos del árbol de la Foto 2 en el momento del viraje de color.



◄ **Foto 5:** Manchas cloróticas en el haz (derecha) y pústulas gomosas en el envés (izquierda) de hojas viejas de naranjo dulce infectado por psoriasis B.



Foto 2: Acanaladuras en la madera inducidas por una cepa virulenta del virus de la tristeza en un pomelo Star Ruby propagado sobre patrón citrumelo.



Foto 4: Síntomas de *woody gall* en *Citrus volkameriana*.

◄ **Foto 6:** Síntomas de leprosis en hojas y fruto de un naranjo dulce Pera en Sao Paulo (Brasil).

El mayor número de comunicaciones sobre CTV (alrededor del 33%) se dedicó al análisis de la diversidad genética y la estructura de las poblaciones virales en diversos países (Brasil, California, China, Colombia e Italia), huéspedes y aislados de distinta virulencia. Los resultados presentados son difíciles de comparar, ya que se utilizaron métodos de análisis muy diversos (serología, análisis de SSCP convencional o mediante electroforesis capilar, RT-PCR con cebadores específicos de distintos genotipos, comparación directa de secuencias, etc), regiones diferentes del genoma de CTV, huéspedes distintos, etc. La preocupación por encontrar marcadores moleculares asociados con la virulencia para poder controlar los aislados de CTV más peligrosos es general. Sin embargo, la mayoría de los trabajos son aún preliminares y poco concluyentes debido al reducido número de aislados que incluyen y a que sólo se analiza una parte menor del genoma del virus que puede no incluir las regiones responsables de la patogenicidad. Por otra parte, la recombinación genética es un fenómeno frecuente en CTV y esto puede dar lugar a conclusiones falsas si la zona analizada procede de una cepa diferente a la del resto del genoma del virus. Más novedoso resultó un análisis de la adaptación de CTV a *Nicotiana benthamiana*, una especie herbácea que se consideraba no huésped de CTV hasta que recientemente se demostró en el IVIA que era capaz de multiplicar y acumular algunas cepas del virus e incluso mostrar síntomas. Mediante pases sucesivos en este huésped y secuenciación del genoma completo se vio que en *N. benthamiana* el virus tendía a acumular mutaciones en algunas regiones del genoma y que la invasión sistémica se iba haciendo más rápida, lo que sugería una adaptación al nuevo huésped. Cuando el aislado adaptado se pasó a cítricos se vio que algunas de las mutaciones acumuladas revertían a la secuencia original, lo que parece confirmar la hipótesis de adaptación al huésped. No se detectaron cambios en la infectividad o en la virulencia del aislado.

Uno de los métodos de identificación y cuantificación de cepas distintas de CTV en una misma planta, desarrollado recientemente en el IVIA, permitió monitorizar el movimiento y acumulación de

una cepa virulenta de CTV en plantas pre-inoculadas con otra no agresiva, y viceversa. Se pudo constatar que ambas cepas invaden los tejidos previamente infectados por la otra, que ambas coexisten en toda la planta y que todas las plantas inoculadas con la cepa virulenta muestran acanaladuras en la madera con independencia del orden en que se inocularon las cepas. Ello vendría a confirmar el hallazgo de la Dra. Folimonova de que una cepa de CTV sólo es capaz de excluir a aislados de la misma cepa.

Tres comunicaciones versaron sobre aspectos epidemiológicos de CTV. En una de ellas desarrollada en México se constataba que *T. citricida* sólo abunda en primavera y que es más prevalente en Yucatán y Campeche, principalmente en naranjo dulce. Hasta el momento no parece haber afectado la dispersión regional de CTV ni incrementado la frecuencia de las cepas más virulentas. En otra desarrollada en el IVIA se constató que la dispersión temporal de CTV en Andalucía (incremento de 0.9% de árboles infectados en 1982 a 2.9% en 2011 en Lora del Río) y Murcia (incremento de 1% en 1996 a 70% en 2011 en Alhama) es en general más lenta que en la Comunidad Valenciana, lo que parece asociado al hecho de que la especie vectora predominante en Valencia es *A. gossypii*, mientras que en Murcia y Andalucía predominan *A. spiraecola* y *T. aurantii* que son menos eficientes en la transmisión del virus. En la tercera comunicación, también del IVIA, se analizó la susceptibilidad de distintos patrones a la infección natural por CTV cuando las plantitas se cultivan a campo abierto. Se encontró la mayor tasa de infección en *C. macrophylla* seguido de *C. volkameriana*, el mandarino Cleopatra mostró una susceptibilidad intermedia y citrange Carrizo y naranjo amargo muy baja. El citrumelo resultó no susceptible. Mediante trampas pegajosas se constató que *A. gossypii* era el vector predominante, que la máxima población se observa en Mayo y que *C. macrophylla* fue la especie más visitada por los pulgones, lo que justificaría la mayor incidencia de CTV en este patrón y la mayor necesidad de mantenerlo protegido de forma permanente.

Finalmente, en dos comunicaciones se analizó el efecto de la infección por CTV en distintos parámetros de la planta

(producción, tamaño del fruto y espesor de la corteza, color del zumo, acidez y sólidos solubles, o contenido en clorofila) y en el perfil de proteínas que ésta acumula en comparación con una planta sana.

Otros virus

Entre las novedades más interesantes en relación con otras virosis está la utilización de la secuenciación masiva para determinar la secuencia del genoma de virus desconocidos hasta ahora que aparecen asociados a enfermedades conocidas de los cítricos. En una comunicación oral se presentó la secuencia completa y características del genoma de un virus asociado con la enfermedad conocida como *vein enation-woody gall*, caracterizada por la formación de agallas en el tronco de varias especies (lima Mexicana, lima Rangpur, limonero rugoso o *C. volkameriana*) (Foto 4) y pequeñas protuberancias en los nervios secundarios de las hojas en lima Mexicana y naranjo amargo. Esta enfermedad de efectos económicos limitados es sin embargo un problema en los programas de certificación de cítricos, ya que se transmite por varias especies de pulgones de forma persistente y es preciso diagnosticar cada año el estado sanitario de las plantas madre de los viveros mediante ensayos de inoculación en plantas indicadoras cultivadas en invernadero. En este trabajo, desarrollado en el IVIA, se presentó la secuencia completa del RNA genómico de un virus del género *Enamovirus*, asociado con *vein enation-woody gall* así como un método rápido de diagnóstico mediante RT-PCR.

Siguiendo una metodología similar, en otra comunicación oral se presentó un trabajo conjunto de grupos de investigación de Italia, Turquía y California con la secuencia completa del genoma de dos virus asociados con las enfermedades del enanismo clorótico (*citrus chlorotic dwarf disease*, CCDD) y de la clorosis nervial (*yellow vein clearing disease*, YVCD) de los cítricos. La primera es una enfermedad detectada sólo en algunas provincias de Turquía que se transmite por la mosca blanca *Parabemisia myricae* y que produce severas deformaciones y manchas cloróticas en hojas jóvenes de distintas especies, afectando especialmente al limonero y al pomelo. El

virus que se encontró asociado a esta enfermedad es un miembro diferenciado de la familia *Geminiviridae*, a la que pertenecen numerosos virus de cultivos hortícolas como el que causa la "enfermedad de la cuchara" del tomate. La segunda enfermedad, inicialmente detectada en Pakistán y posteriormente en Turquía y China, produce amarilleo nervial en distintas especies como el limonero y el naranjo amargo y se había asociado a un virus filamentosos. La secuencia de su RNA genómico ha puesto de manifiesto que se trata de un virus del género *Mandarinivirus*. Las dos secuencias obtenidas han permitido poner a punto métodos de diagnóstico rápido mediante PCR (CCDD) y RT-PCR (YVCD) para el diagnóstico de las respectivas enfermedades.

También se presentaron avances interesantes en el conocimiento y detección del virus de la psoriasis de los cítricos. Esta enfermedad, que actualmente es difícil encontrar en España y otros países que llevaron a cabo un programa estricto de certificación de cítricos, sigue siendo un problema en algunas zonas del mundo en las que se dispersa de forma natural por un vector no identificado. Mientras la forma A de la psoriasis sólo produce descamación en el tronco y ramas principales de los árboles afectados y manchas cloróticas transitorias en las hojas jóvenes en primavera, la psoriasis B produce una descamación rampante que afecta incluso ramas finas y pústulas gomosas en brotes verdes y hojas viejas (Foto 5). La enfermedad está asociada con un virus del género *Ophiovirus* (*Citrus psorosis virus*, CPsV), cuyo genoma consiste en tres moléculas de RNA de polaridad negativa. En una comunicación del IVIA se mostró que el síndrome de psoriasis B está asociado con una variante de secuencia del RNA2 y que los árboles con psoriasis A contienen las dos variantes de secuencia (A y B), si bien la segunda tiende a acumularse en el tronco y predomina en las zonas descamadas. En otras dos comunicaciones, del IVIA y de la Universidad de La Plata (Argentina), se presentaron sendos métodos de detección del virus de la psoriasis mediante RT-PCR en tiempo real que mejoran notablemente la sensibilidad de detección del mismo con respecto a la RT-PCR convencional y que permiten determinar y comparar la carga viral en distintos tejidos de una misma

planta. Este método y el análisis ELISA se utilizaron para estudiar la resistencia o tolerancia a CPsV de distintas especies, cultivares e híbridos de *Citrus* y otros géneros relacionados del banco de germoplasma del IVIA. De las 61 entradas del banco que se analizaron, la mayoría acumularon bien el virus y dieron síntomas, dos resultaron tolerantes (acumulaban el virus pero no dieron síntomas), y sólo se encontró resistencia parcial, dependiente de la cepa de CPsV utilizada, en mandarino Cleopatra, citrange Carrizo y *Poncirus trifoliata*.

En relación con el virus del manchado foliar de los cítricos (CLBV) se presentaron dos comunicaciones. Una de ellas con los resultados de una prospección en Sicilia y Calabria (Italia) en la que el virus se detectó en 80% de las plantas analizadas de kumquat y en 31% de las de calamondín, pero no en otras variedades. En la otra se analizó el movimiento del virus en plantas infectadas de cítricos o *N. benthamiana* utilizando un clon infeccioso que expresa fluorescencia en las células infectadas o detectando el virus mediante RT-PCR. CLBV se detectó en todos los tejidos de *N. benthamiana*, incluyendo óvulos y regiones meristemáticas. También en cítricos se detectó CLBV en regiones meristemáticas, lo que justificaría la dificultad para eliminar este virus por microinjerto de las variedades infectadas. La utilización de CLBV como vector viral para expresar en cítricos proteínas foráneas o para silenciar genes endógenos de la planta y averiguar su función se presentó en la sesión de genómica.

El virus de la hoja rasgada (*Citrus tatter leaf virus*, CTLV) fue tema de dos comunicaciones. En una de ellas se presentó la secuencia del RNA genómico de un aislado chino del virus y la preparación de un clon de DNA complementario del mismo para desarrollar estudios genéticos y moleculares sobre CTLV. En la otra se reportó una mejora en la eliminación de CTLV mediante microinjerto de plantas infectadas combinando tratamientos previos con un producto vegetal de la medicina tradicional china y termoterapia. También se presentó la primera identificación de la enfermedad YVCD en China, que anteriormente sólo se había descrito en Pakistán y Turquía.

El virus de la leprosis de los cítricos (*Citrus leprosis virus*, CiLV), transmitido por ácaros del género *Brevipalpus*, tiene importancia económica en América Central y del Sur, especialmente en Brasil, por los daños que ocasiona en hojas y frutos (Foto 6) y por los tratamientos anti-ácaros que se hacen necesarios para su control. Aunque el desarrollo de la enfermedad depende del ácaro, se había observado previamente que los árboles con síntomas aparecían mucho más agregados que los árboles infestados por *Brevipalpus*, lo que podría ser debido a un movimiento limitado de los ácaros y a que éstos dependen de los árboles sintomáticos para convertirse en vectores virulíferos. En una comunicación oral sobre epidemiología de leprosis en Sao Paulo se demostró que sólo un 37.7% de los ácaros analizados eran portadores de CiLV, que el 71.3% de los ácaros virulíferos procedían de árboles infectados y el 95% habían sido capturados en un radio de 7 metros alrededor de los árboles infectados, mientras que en los muestreos a más de 23.5 metros de un árbol infectado no se detectaba ningún ácaro virulífero. Estos datos justifican las pautas de agregación observadas previamente.

En el tema de viroides de los cítricos se presentó una comunicación oral novedosa en la que se observaba que CTV aumentaba claramente la acumulación del viroide del enanismo de los cítricos (*Citrus dwarfing viroid*, CDVd) en plantas de lima co-infectadas por ambos patógenos. Cuando se infectó con CDVd limas transgénicas que expresaban cada uno de los tres supresores del silenciamiento de CTV, se observó que las plantas transgénicas que expresaban p23 aumentaron la acumulación de CDVd al mismo nivel que las plantas normales infectadas con CTV, lo que confirma que el mecanismo de silenciamiento de los cítricos también actúa sobre los viroides y que dicho mecanismo puede ser suprimido por la proteína p23. La secuenciación masiva en plantas infectadas con diversos viroides se utilizó en una comunicación oral de China para analizar la distribución de los sRNAs en el genoma de los viroides y para estudiar la alteración del perfil de sRNAs de la planta infectada. Los resultados ponían de manifiesto que, al igual que en algunos virus, la degradación del RNA viroidal

ocurre preferentemente en zonas específicas de su genoma. La secuenciación masiva también fue utilizada en una comunicación oral del IVIA para detectar nuevos viroides en cítricos, y en otra se presentó un estuche para la detección simultánea de los viroides de la exocortis (*Citrus exocortis viroid*, CEVd) y de la caquexia (*Hop stunt viroid*, HSVd) mediante RT-PCR en tiempo real utilizando como diana el RNA depositado en improntas de tejido en lugar de preparar extractos. Un estudio sobre el efecto de CEVd y HSVd sobre el crecimiento, producción y calidad de la fruta de la naranja Maltesa de Túnez propagada sobre 8 patrones diferentes mostró efectos importantes de HSVd sobre estos parámetros en plantas propagadas sobre *C. macropylla*, y de CEVd en el caso de plantas propagadas sobre patrones trifoliados y lima Rangpur.

Finalmente, se presentó un resumen del programa de certificación de cítricos en España con una actualización de sus resultados en el que se indicaba que hasta el momento se han propagado 150 millones de plantas de 103 variedades, obtenidas libres de virus en los programas de saneamiento y cuarentena que se desarrollan en el IVIA. De éstas, 51% son naranjos dulces, 27% clementinas, 13% otras mandarinas, 6% limones y 1% pomelos. Actualmente, 59% de las plantas que se producen en España van propagadas sobre citrange Carrizo y un 19% sobre *C. macropylla*. Estas plantas se obtienen en unos 40 viveros que se han agrupado en torno a 7 bloques distintos de árboles madre.

Como resumen de la sesión se puede decir que las nuevas tecnologías están entrando con fuerza en el estudio de las virosis y enfermedades de los cítricos y

están permitiendo: I) descubrir los agentes causantes de algunas enfermedades conocidas durante años, II) efectuar diagnósticos cada vez más rápidos, económicos y fiables con una sensibilidad de detección que hace pocos años no podíamos imaginar, III) conocer mejor las dinámicas de las poblaciones virales y aplicar estos conocimientos al control de las enfermedades que tienen dispersión natural, y IV) estudiar las interacciones entre virus y huésped como base para hacer en el futuro que éstas resulten lo menos dañinas posible para la producción, utilizando técnicas biotecnológicas. Las enfermedades que carecen de dispersión por vectores y se transmiten fundamentalmente por el uso de yemas infectadas están llamadas a desaparecer en aquellos países que apliquen correctamente programas de certificación. El éxito del programa español puede ser una buena muestra de ello.



PROPUESTA PARA EL MANEJO PRÁCTICO DEL CULTIVO DE LOS CÍTRICOS

Autor: Carlos Tornero Raga. 617 págs. Fotografías color (2012)

Índice: Introducción de cultivo: Diagrama varietal; Estados Fenológicos (Fotografías).

Patrones: Cuadro de Patrones, diferenciación visual de las hojas de los Patrones.

Cultivo de variedades de cítricos:

En cada una de las variedades se incluye:

A) **Tratamientos:** Producto comercial, Materia activa y dosis (Hongos en invierno y primavera. Botritis -Antracnosis en floración (Phytophthora, Alternaria [se indica en las variedades que les afecte]). Púlgon. Floración. Cuajado y engorde. Mejora de la calidad de la piel. Conservación fruta.

B) **Cultivo:** Labores culturales: poda, herbicida, regulación floración, aclareo, rajado, anillado-rayado (se indica en las variedades correspondientes), clareta, caída de frutos...etc. Riego, fertilización y aplicación de productos fitos vía riego: estimulación crecimiento radicular, hongos en raíces-phytophthora, herbicidación. Principales plagas, hongos y enfermedades del árbol.

Clementinas (Basol, Clemenrubí, Oronules, Loretina, Clemenpons, Arrufatina, Marisol, Orogrande-Clemenules, Nour, Hernandina).

Mandarinos Híbridos (Nova, Fortune, Ortanique, Nadorcott).

Naranja de Mesa - Grupo Navel (Navelina, Navel Fukumoto, Navel Foyos, Navel Cara Cara, Navelate, Lane Late, Navel Powell, Navel Chislett).

Naranja de Zumo - Grupo Blancas (Salustiana, Barberina, Valencia Midknight, Valencia Delta Seedless, Valencia Late Frost).

Pomelo (Strar Ruby).

Plantones e injertadas.

Control Plagas: Identificación, fauna auxiliar, daños y control químico en Pulgón, Piojo Rojo de California, Araña Roja, Ácaro Rojo, Araña Verde, Ácaro de las Maravillas, Minador de los Cítricos, Mosca de la Fruta, Chinche Verde, Mosquito Verde, Caracoles y Babosas, Hormigas, Mosca Blanca Algodonosa de los Cítricos, Otras plagas (Caparreta blanca o negra, Cacoecia pronubana, Prays citri, barreneta, tijereta de los diferentes tipos piojos o trips).

Control hongos, bacterias y otros: Identificación, daños, control químico en aguado, antracnosis, alternaria, bacteriosis, otros (Xiloporosis-Caquexia y Exocortis).

Fertilización: Riego, abonado, aplicación otros nutrientes. Limpieza de las instalaciones de riego.

Control de malas hierbas: Estrategia de control: Tipo de suelo, edad plantación, calibración barra: boquillas, caldo litros/ha, tipo riego, característica agua, tipo de hierba, condiciones meteorológicas, marco plantación, variedades, aplicación con o sin fruta en el árbol. Herbicida a barra y mochila, herbicidación, siega mecánica.

Labores de cultivo: Poda, desbrotar, injertada y rayado o anillado.

Plantación: Transformación de una plantación. Consejos prácticos. Nueva plantación, replantación árboles sueltos.

Anexos - Controles técnicos: Recogida de muestras foliares y datos calibres, análisis del índice de madurez, cálculo de la integral térmica, estados fenológicos, calibración del turboatomizador y de la barra de herbicida, consejos prácticos.

P.V.P. 45 €- (Envíos contra reembolso. I.V.A. incluido. Gastos de envío aparte) - Pedidos Tel.: 96/ 372 02 61 - pedidos@edicioneslav.com